

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-298079

(43)Date of publication of application : 24.10.2000

(51)Int.Cl.

G01N 1/10  
G01N 25/16  
G01N 27/447

(21)Application number : 11-105972

(71)Applicant : KANAGAWA ACAD OF SCI &amp; TECHNOL

(22)Date of filing : 13.04.1999

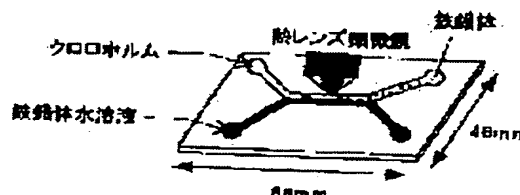
(72)Inventor : KITAMORI TAKEHIKO  
SAWADA SHIRO  
TOKESHI MANABU

## (54) MOLECULE TRANSPORTATION AND EXTRACTION METHOD

## (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a molecule transportation and extraction method which is versatile which has a wide application range and in which various molecules in an ultra trace amount can be selectively separated and high-sensitivity- analyzed on a microchip quickly and with high accuracy by a method wherein the molecules are correlation-transported inside a microchannel whose depth and width are at a prescribed value or lower and the molecules are extracted by a solvent.

**SOLUTION:** An object to be considered is provided with a requirement that a cover body in which a small hole for sample injection is arranged so as to correspond to the prescribed position of a microchannel (a micro flow-passage) is laminated and integrated on a board in which the microchannel whose width is, e.g. 500  $\mu\text{m}$  or lower and whose depth is, e.g. 300  $\mu\text{m}$  or lower is formed. By the requirement, a liquid can be passed to the microchannel in a state that molecules are diffused stably and at high speed even in an ultra trace amount, i.e., without hardly being influenced by a state at the outside of the cover body. An effect which uses the microchannel is increased in a more multiple manner by means of this structure.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-298079

(P2000-298079A)

(43) 公開日 平成12年10月24日 (2000. 10. 24)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テマコード\* (参考)

G 0 1 N 1/10

G 0 1 N 1/10

F 2 G 0 4 0

G

N

C

25/16

25/16

3 3 1 E

27/447

27/26

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号

特願平11-105972

(22) 出願日

平成11年4月13日 (1999. 4. 13)

特許法第30条第1項適用申請有り 1998年10月13日 K  
LUWER ACADEMIC PUBLISHERS  
発行の「Micro Total Analysis  
Systems' 98」に発表

(71) 出願人 591243103

財団法人神奈川科学技術アカデミー

神奈川県川崎市高津区坂戸3丁目2番1号

(72) 発明者 北森 武彦

千葉県松戸市松戸2172-1-308

(72) 発明者 澤田 嗣郎

東京都荒川区南千住6-37-2-504

(72) 発明者 渡慶次 学

神奈川県川崎市多摩区宿河原4-30-8

(74) 代理人 100093230

弁理士 西澤 利夫

Fターム(参考) 2G040 AA02 AB07 BA02 BA24 CA02

CA12 CA23 EA06 EB02 GA05

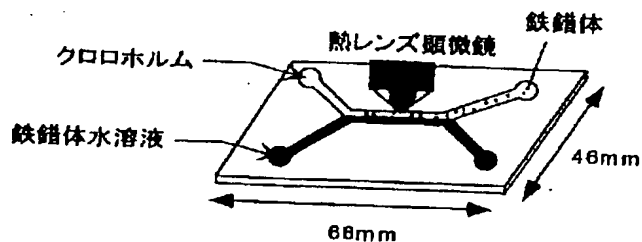
GA07 GC01

(54) 【発明の名称】 分子輸送抽出方法

(57) 【要約】

【課題】 広い適用範囲を有し、迅速、かつ高精度な超微量分子の選択的分離とその高感度分析をマイクロチップ上で可能とする。

【解決手段】 幅500μm以下、深さ300μm以下のマイクロチャンネル内において相間分子輸送を行って溶媒抽出する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 幅500 $\mu$ m以下、深さ300 $\mu$ m以下のマイクロチャンネル内において相関分子輸送を行って溶媒抽出することを特徴とする分子輸送抽出方法。

【請求項2】 マイクロチャンネル内で抽出された物質を光熱変換分光分析により検出する請求項1の分子輸送抽出方法。

【請求項3】 マイクロチャンネルは、被抽出物質含有の試料と抽出溶媒とを別々に合流本体部へと通流する注入分岐部を有している請求項1または2の分子輸送抽出方法。

【請求項4】 マイクロチャンネルは、抽出された物質を含有する抽出溶媒と試料残液とを別々に合流本体部より排出する排出分岐部を有している請求項1ないし3のいずれかの分子輸送抽出方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】この出願の発明は、分子輸送抽出方法に関するものである。さらに詳しくは、この出願の発明は、高感度な医療分析や環境分析として、超微量分子の選択的な分離、同定等に有用な、分子輸送抽出方法に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術とその課題】従来より、ガラス基板上にマイクロチャンネル（微細流路）を切削し、これを用いて電気泳動分析を集積化しようとする試みがなされてきている。このような試みは、キャピラリー電気泳動分析法から派生してきたものであって、分析に使用する試料が少なく、迅速で高分解分離が可能であることから、DNA解析の高速化などに有用なものとして注目されている。

【0003】しかしながら、以上のようなマイクロチャンネルを有するデバイスを用いた従来の試みは、電気泳動分析法を目的とすることに限られており、また、検出手段もレーザー誘起蛍光法を採用していることから、試料対象が蛍光性分子に限られてしまうという限界があった。一方、この出願の発明者らは、数cm角のガラス基板上にマイクロチャンネルを形成し、そこに様々な化学操作（反応、分離、抽出、検出など）を集積化させてマイクロチップ化した集積化化学実験室（ICL：Integrated Chemistry Laboratory）を構築することを検討してきた。

【0004】そこで、このような背景から、この出願の発明は、前記のような電気泳動分析法や、蛍光性分子等に限定されることなしに、汎用でより広い適用が可能とされ、しかもマイクロチップ上で、迅速、かつ高精度での各種の超微量分子の選択的分離と、その高感度での同定が可能とされる新しい分子輸送抽出方法を提供することを課題としている。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】この出願の発明は、上記の課題を解決するものとして、第1には、幅500 $\mu$ m以下、深さ300 $\mu$ m以下のマイクロチャンネル内において相関分子輸送を行って溶媒抽出することを特徴とする分子輸送抽出方法を提供する。また、この出願の発明は、上記方法に関して、第2にはマイクロチャンネル内で抽出された物質を光熱変換分光分析により検出する分子輸送抽出方法を、第3には、マイクロチャンネルは、被抽出物質含有の試料と抽出溶媒とを別々に合流本体部へと通流する注入分岐部を有している分子輸送抽出方法を、第4には、マイクロチャンネルは、抽出された物質を含有する抽出溶媒と試料残液とを別々に合流本体部より排出する排出分岐部を有している分子輸送抽出方法をも提供する。

## 【0006】

【発明の実施の形態】この出願の発明は、上記のとおりの特徴をもつものであるが、以下に、その実施の形態について説明する。この発明の分子輸送抽出方法は、基本的に、前記のとおり要件、すなわち、＜A＞幅500 $\mu$ m以下、深さ300 $\mu$ m以下のマイクロチャンネル（微細流路）内において、＜B＞相関分子輸送を行って溶媒抽出することを特徴としている。

【0007】これによって、微小なマイクロチップ上において、超微量分子の迅速で、しかも高精度での選択的分離と、高感度での同定分析が可能となる。上記のとおり＜A＞マイクロチャンネルは、硬質基板上に形成したものであるとして考慮され、マイクロチャンネルが表面に露出した状態のもの、あるいはマイクロチャンネルが露出しないようにカバーされたもののいずれの態様として実施される。より実際的には後者のものが適当である。

【0008】このマイクロチャンネルがカバーされているものとしては、たとえば

＜I＞幅500 $\mu$ m以下、深さ300 $\mu$ m以下の大きさのマイクロチャンネル（微細流路）が形成された基板の上に、＜II＞マイクロチャンネルの所定位置に対応して試料注入用小穴が配置されたカバー体が積層一体化されているとの要件を備えているものが考慮される。

【0009】この要件によって、マイクロチャンネルへの液体の通液は、超微量であってもより高速な分子拡散を安定した状態で、つまり、カバー体外部の状況にほとんど左右されることなく安定して可能とされる。マイクロチャンネルを利用することの効果は、この構造によって、より相乗的に高められることになる。そして、さらにこのマイクロチャンネル構造体としては、＜III＞カバー体には、排出用小穴がマイクロチャンネルの所定位置に対応して配置されているもの、＜IV＞カバー体には、マイクロチャンネルの所定位置に対応して抽出溶剤注入用小穴が配置されているものを適当なものとしてもいい。

【0010】そして、マイクロチャンネルは、被抽出物

質含有の材料と抽出溶媒とを別々に合流本体部へと通液する注入分岐部を有しているものや、マイクロチャンネルは、抽出された物質を含有する抽出溶媒と、試料残液とを別々に合流本体部より排出する排出分岐部を有しているものが考慮されることになる。さらに説明すると、基板としては、マイクロチャンネルの形成加工が可能であって、耐薬剤性に優れ、適度な剛性をも備えたものから選択することが考慮される。たとえば、ガラス、石英、セラミックス、シリコンあるいは金属、樹脂等であってよい。カバー体についても同様である。ただ、光分析の適用等を考慮する場合には、透明性の高いものが好ましい。

【0011】マイクロチャンネルの大きさは、幅500  $\mu\text{m}$ 以下、深さ300  $\mu\text{m}$ 以下であるが、幅300  $\mu\text{m}$ 以下、深さ150  $\mu\text{m}$ 以下とすることが、超微量分子の抽出を迅速、かつ高精度で行う上でより適当である。マイクロチャンネルの幅、深さが上記の中のものを超えて大きい場合には、超微量物質の分子輸送抽出を迅速、かつ高精度で行うことは難しくなる。

【0012】以上のような大きさを特徴とするマイクロチャンネルそのものは、たとえばレーザー加工、イオンエッチング加工等の手段によって形成することができる。基板やカバー体の全体の大きさについては特に制限はないが、マイクロチップ状としてこの発明のマイクロチャンネル構造体を構成するとの観点からは、たとえば基板およびカバー体は、ともに、外形寸法としての幅が50mm以下、長さが80mm以下程度で、厚みは数mm以下程度とすることが考慮される。

【0013】試料注入用小穴、排出用小穴、さらには抽出溶剤注入用小穴がカバー体に配置される場合には、これらは、その径が数mm以下であることがたとえば例示される。ここで、抽出溶剤としては各種のものであってよいことが留意される。たとえば溶媒抽出用の有機溶媒、水あるいは水性液剤等である。

【0014】前記の小穴の加工も、化学的に、機械的に、あるいはレーザー照射やイオンエッチング等の各種の手段によって可能とされる。基板とカバー体とは、熱処理接合により、あるいは接着等の手段により積層一体化することができる。また、この積層時には、基板の補強のために、あるいは、マイクロチャンネルに対応する溝を貫通状態で基板に形成し、支持体で一方の開口を封止して実際のマイクロチャンネルとするために、カバー体と反対の側に支持体を積層一体化してもよい。

【0015】この積層一体化によって、マイクロチャンネルは、試料注入用小穴等のカバー体に設けた小穴、そして排出用小穴でのみ外界と通じた状態になる。このため、マイクロチャンネル内に流通される液体は外部条件に左右されることが少なく、より安定した微細流れとなる。マイクロチャンネル内への通液は、マイクロポンプ等の機械的手段や電気振とう手段等によって、あるいは

排出用小穴での吸引等によって可能とされる。

【0016】相間分子輸送抽出は、この発明においては以上のような微細流路としてのマイクロチャンネル内において行うことになるが、この際の抽出は、錯体反応等の化学反応が抽出に先行して、あるいは抽出とほぼ同時にマイクロチャンネル内で進行する系として行われてもよい。また、このマイクロチャンネル内での抽出操作により抽出された物質分子は、その場において光熱変換分光分析により高感度で分析することが可能となる。たとえば熱レンズ顕微鏡等による分光分析である。

【0017】そこで以下に実施例を示し、さらに詳しく発明の実施の形態について説明する。

【0018】

【実施例】（実施例1）微量物質の溶媒抽出のためのマイクロチャンネルチップを製造した。まず、図1に例示したように、200  $\mu\text{m}$ 幅、100  $\mu\text{m}$ 深さのマイクロチャンネルを持つマイクロチャンネル構造体を次の手順で製造した。

【0019】厚み1mmの石英ガラス基板（Middle plate）に、 $\text{CO}_2$ レーザーを照射して幅200  $\mu\text{m}$ のマイクロチャンネルを、図1のように、ダブル逆Y字形状として形成した。この石英ガラス基板を、次いで、厚み500  $\mu\text{m}$ の石英ガラス支持体（Bottom plate）に熱接合して積層し、マイクロチャンネルの深さが100  $\mu\text{m}$ となるように研磨した。これによって、幅200  $\mu\text{m}$ 、深さ100  $\mu\text{m}$ のマイクロチャンネルが形成された。

【0020】その後、厚み1mmの石英ガラスカバー体（Cover plate）を熱接合した。このカバー体には、あらかじめマイクロチャンネルの端点位置に対応する4個の小穴（径1mm）を設けておいた。この小穴は、各々、注入用小穴（Inlet）と、排出用小穴（Drain）となるものとした。次いで、積層されたカバー体は、その厚みが170  $\mu\text{m}$ となるまで研磨した。

（実施例2）以上と同様の手順により製造した幅250  $\mu\text{m}$ 、深さ100  $\mu\text{m}$ のマイクロチャンネルチップ（46mm×66mm）を用いて、図2のようにして、相間分子輸送による溶媒抽出を行った。

【0021】すなわち、マイクロチャンネルの一方に鉄錯体水溶液（ $2 \times 10^{-5} \sim 9 \times 10^{-7} \text{M}$ ）、もう一方にクロロホルムをマイクロシリンジポンプで導入し、チャンネル内で溶媒抽出を行った。クロロホルム相に抽出された鉄錯体を熱レンズ顕微鏡で検出した。鉄錯体の励起には $\text{Ar}^+$ レーザー（514.5nm、200mW）、プローブに $\text{He-Ne}$ レーザー（632.8nm、15mW）を用いた。また、対象実験として同試料を分液ロートで溶媒抽出を行い、クロロホルム相のみを取りだし、マイクロチャンネルに導入して同様に測定した。

【0022】マイクロチャンネル内に導入された鉄錯体水溶液とクロロホルムは二相を形成したが、流れがあるとせん断拡散しないために水相からクロロホルム相には

錯体は移動しない。送液を停止し、流れが止まると鉄錯体は拡散によって水相からクロロホルム相への相間移動した。クロロホルム相で測定した熱レンズ信号は鉄錯体濃度に比例しており、マイクロチャンネル内で鉄錯体が定量的に溶媒抽出できていることを示している。送液の流量 ( $100 \sim 0.1 \mu\text{l}/\text{m}$ ) を変えることで錯体のクロロホルム相への相間移動時間を制御することが可能になった。電気泳動を使わないではじめて超微量分子を選択分離することに成功した。この成果はさらに複雑な化学操作をマイクロチップ上で行う際に、分子輸送の制御という点で本手法が有効であることを示している。これらの技術を組み合わせることで反応性生物の選択的分離が可能となり、環境分析素子や家庭における医療分析素子などに発展すると期待される。

【実施例3】実施例1と同様の手順によって、図3にその平面配置を示したマイクロチャンネルを有するチップを用いて分子輸送抽出を行った。反応系はコバルトの分析試薬として良く知られている2-ニトロソ-1-ナフトール (NN) との錯形成反応と溶媒抽出、熱レンズ顕微鏡測定を組み合わせた。熱レンズ顕微鏡の励起光は波長  $488 \text{ nm}$  の  $\text{Ar}^+$  レーザー、プローブ光には波長  $633 \text{ nm}$  の  $\text{He-Ne}$  レーザーを用いた。

【0023】マイクロチャンネル (幅  $200 \mu\text{m}$ 、深さ  $100 \mu\text{m}$ ) としては、試薬 NN の水酸化ナトリウム溶液、抽出相の  $m$ -キシレン、分析対象のコバルト水溶液をそれぞれ導入するための3の分岐チャンネルを持つも

のとした。各分岐チャンネルから導入された液体試料は、マイクロシリジポンプで流量一定の条件で送液する。チャンネル上流部 (A) で  $m$ -キシレンと試薬 (NN) 溶液の2相流を形成させた後、数  $\text{mm}$  下流 (B 以前) で NN 溶液側からコバルト水溶液を導入した。NN とコバルトは錯形成反応 (B 以降) し、 $m$ -キシレンと直接接する領域で、コバルト-NN 錯体は速やかに抽出相の  $m$ -キシレンに抽出される。熱レンズ顕微鏡 (A, B, C の各点) で抽出相のコバルト-NN 錯体の量をモニターしたところ、約5分間で平衡に達した。錯形成反応は拡散律速であるため、相互分子拡散で混合に要する時間が反応時間に相当する。

【0024】

【発明の効果】以上詳しく説明したとおり、この出願の説明によって、従来の電気泳動分析法や、蛍光性分子の使用等に限定されることなく、広い適用が可能で、しかも迅速、高精度での各種の超微量分子の選択的分離とその高感度での分析が可能とされる。

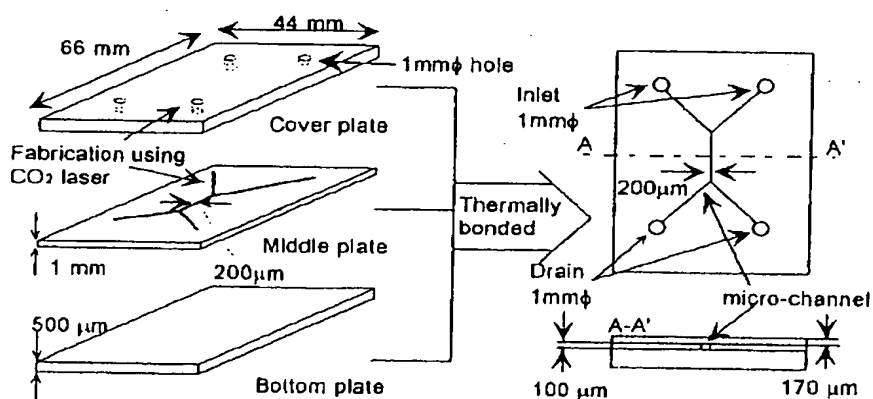
【図面の簡単な説明】

【図1】実施例について例示した分解斜視図と、平面および正断面図である。

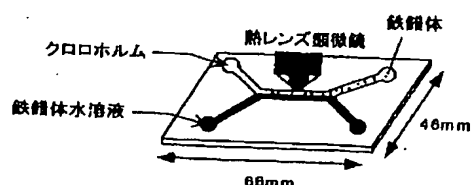
【図2】実施例としての溶媒抽出と熱レンズ顕微鏡による分析を示した斜視概要図である。

【図3】実施例としての錯体形成反応、溶媒抽出および熱レンズ顕微鏡による分析を示した平面概要図である。

【図1】



【図2】



【図3】

